

新生儿极早发炎症性肠病临床特征及IL-10受体突变基因分析

卢刻羽¹, 钱力¹, 王崇伟¹, 俞海国², 金玉³, 陈俊¹, 程锐^{1*}

¹南京医科大学附属儿童医院新生儿医疗中心, ²风湿免疫科, ³消化科, 江苏 南京 210008

[关键词] 炎症性肠病; 白细胞介素10受体; 新生儿

[中图分类号] R725.7

[文献标志码] B

[文章编号] 1007-4368(2018)12-1793-04

doi:10.7655/NYDXBNS20181236

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一种胃肠道慢性炎症性疾病,由多种遗传、免疫和环境因素共同作用引起,是人体免疫系统对消化道常见细菌过度反应的结果。约25%的IBD患者在儿童时期出现,其不仅出现成人IBD中常见的症状,如腹痛、体重减轻和腹泻,而且还有生长衰竭和青春期延迟的高风险^[1]。其中极早发炎症性肠病(very early onset IBD, VEO-IBD)被定义为发病年龄6岁以下的IBD。VEO-IBD包括溃疡性结肠炎、克罗恩病和相对较高比例的未分型IBD。与成人发病的IBD相比,VEO-IBD具有遗传易感性,临床病程较重,抗生素治疗无效,对免疫抑制治疗耐受性较强等特点^[2]。近年来欧美多个中心研究均提示VEO-IBD多为单基因突变引起,其中白细胞介素(interleukin, IL)-10或者IL-10受体(包括IL-10RA和IL-10RB)突变均可以导致严重的IBD^[3]。VEO-IBD具有其独特的表型与遗传学特征,根据IBD的标准组织学和免疫学特征进行分类诊断不明确,而基因测定则可作为诊断该疾病的重要方法。

1 临床资料

患儿,女,17 d 4 h。第1胎,第1产,胎龄41周,剖宫产,患儿出生体重3 400 g,1 min、5 min Apgar评分均为10分。母亲孕期检查未见明显异常。家族史中有2个姨祖母有口腔炎病亡病史。2017年10月17日因发热、腹泻伴口腔溃疡6 d入院。患儿出生后第11天开始出现发热,热峰39.1℃,口腔黏

膜有多处溃疡,大便稀水样,无呕吐、腹胀,尿量正常,于当地医院住院治疗,诊断为溃疡性口炎,予以青霉素、头孢哌酮舒巴坦治疗6 d,未见明显好转,遂转至本院治疗,入院后查体:体重3 250 g,精神反应欠佳,重度营养不良,全身皮肤苍白,面部少许皮疹,前囟平软,口腔黏膜散在分布数枚溃疡,可见白色膜状物,不易拭去,咽部稍充血,颈软,双肺听诊呼吸音粗,未闻及明显干湿啰音。心音有力,腹软,肝脾肋下未触及肿大,肠鸣音存在。四肢肌张力未见异常。入院后实验室检查:C反应蛋白(CRP)147 mg/L,白细胞 15.86×10^9 个/L,淋巴细胞百分比26.3%,中性粒细胞百分比61.2%,血红蛋白浓度110 g/L,血小板计数 399×10^9 个/L,降钙素原7.57 ng/mL;粪便常规:黄绿色,脓细胞偶见,红细胞3~5个/高倍镜视野,隐血试验弱阳性,轮状病毒阴性;大便钙卫蛋白1 484.1 μg/g;大便细菌涂片检查:球杆菌比正常,艰难梭状芽孢杆菌培养阴性;大便培养结果示无大肠杆菌生长,有粪链菌生长。免疫细胞、抗体功能、数量正常。予完善相关检查,行腰椎穿刺脑脊液检查排除中枢神经系统感染,血降钙素原(7.57 ng/mL)、CRP(147 mg/L)均明显增高,考虑感染重,治疗予美罗培南联合夫西地酸抗感染、输注丙种球蛋白及肠外营养等治疗2周后热退,白细胞正常,腹泻好转,予氨基酸奶粉50 mL/次,每3 h 1次喂养可完成;症状好转10 d后再次出现发热,腹泻加重,血常规白细胞升高,我院消化科会诊考虑患儿新生儿期发病,反复发热、反复口腔溃疡、腹泻、贫血,白细胞升高,CRP升高,PCT升高,抗首治疗效果不好,怀疑早期型IBD,根据VEO-IBD相关单基因突变的报道,确诊需基因检查。经患儿父母知情同意后,抽取患儿外周血约2 mL,置于EDTA抗凝管中混匀并于-80℃

[基金项目] 南京医科大学科技发展基金(2017NJMU058)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: chengrui350@163.com

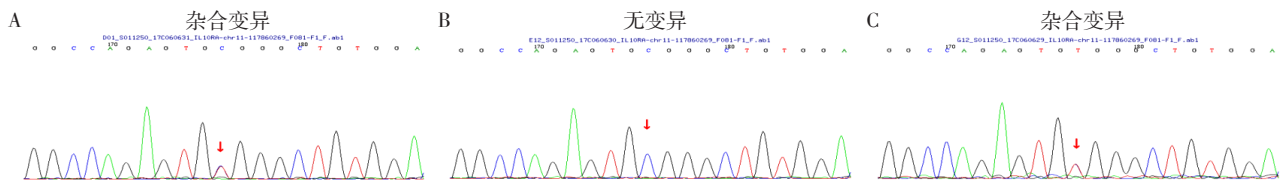
保存。样品送至北京迈基诺医学检验所检测。通过全外显子检测(exome sequencing, WES)将全外显子序列捕获,再进行高通量测序筛选出错误义突变、同义突变、功能缺失型变异的蛋白编码DNA;在人类基因突变数据库(HGMD)、在线人类孟德尔遗传(OMIM)以及Clin Var等数据库中筛选已报道过的致病突变;并通过搜索人群大规模测序数据库,排除正常人群中较高频率变异,筛选出人群中发生频率极低的突变位点。根据筛选出的突变位点,取父母及患儿血样本进行Sanger测序验证。WES结果显示患儿样本IL-10RA基因有2个杂合突变:①c.301C>T错义突变,导致氨基酸改变p.R101W,患儿母亲该位点杂合变异(图1);②c.537G>A同义突变,导致氨基酸改变p.T179T,患儿父亲该位点杂合变异;患儿为复杂杂合突变(图2)。这2个变异不属于多态性位点,在人群中发生频率极低。HGMD专业版数据库已报道与Crohn's disease、neonatal onset 相关。告知家长患儿存在基因缺陷,建议行异基因造血干细胞移植(hematopoietic stem cell transplantation, HSCT)治疗,家长要求放弃治疗,自动出院。

2 讨论

IBD是一种复杂的、多基因的、环境因素触发的慢性非特异性肠道炎症性疾病。巴黎分型定义VEO-IBD为6岁以前诊断为IBD的患儿。VEO-IBD患者在儿童IBD中占比大约15%, <1岁的IBD患儿约占VEO-IBD的1%,新生儿期VEO-IBD比例约为0.25%^[4]。VEO-IBD发病率呈上升趋势,国内外报道

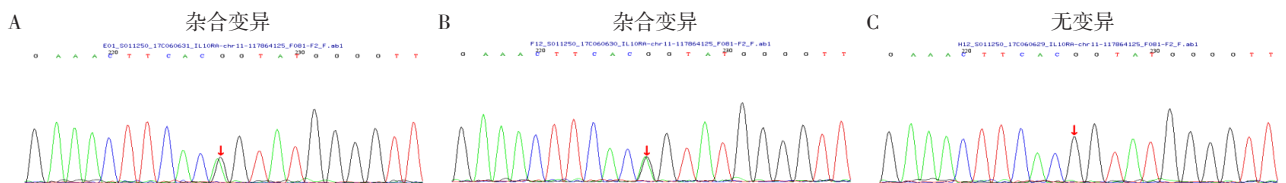
的新生儿IBD数量明显增多,除发病率增加外,也可能与诊治水平显著提高相关。VEO-IBD的诊断需要排除引起结肠炎的其他原因,特别是免疫缺陷和严重的过敏性结肠炎。以往部分VEO-IBD最初被诊断为过敏性疾病,目前通过消化内镜及基因检测,此类患儿可早期明确IBD诊断。

尽管病因及发病机制复杂,但近年来研究越来越倾向于宿主遗传学可能对VEO-IBD患儿有重要影响。与外界认为外源性环境因素起较大作用的青少年和成人型IBD相比,遗传易感性则在VEO-IBD发病机制中发挥更多作用,且多为单基因遗传。大约25%~30%的儿童IBD患者有阳性家族史。全基因组关联研究(GWASs)已经发现了201个可能与IBD相关的基因突变位点。目前通过新的基因测序技术(如特异性Sanger测序、定制靶向NGS和父母-儿童三重染色体全外显子测序)证实至少有58个易感基因参与了VEO-IBD的发病过程^[5]。包括影响细胞内外模式识别受体的NOD2,影响自体吞噬的ATG16L1,影响Th17^[6]分化的IL-23R,抑制过度炎症反应的IL-10R、IL-10以及抑制凋亡的XIAP等基因。此类基因突变与IBD的相关性已在国内外相关文献报道中被证实。其中与VEO-IBD发病机制相关性最为密切的是IL-10基因及IL-10R基因突变^[7]。目前已报道的IL-10或IL-10R基因突变的VEO-IBD病例共有60多例,大部分来自欧美地区国家,东亚地区报道的22例中,21例发生了IL-10RA突变,只有1例有IL-10RB。至今为止,国内外关于新生儿期IBD报道的病例数仍很少,缺乏流



A: 患儿存在 c.301C>T 错义突变,导致氨基酸改变 p.R101W; B: 患儿父亲无突变; C: 患儿母亲存在 c.301C>T 杂合突变; 红色箭头所指为基因突变所在碱基位置。

图1 IL-10RA 基因测序图 c.301C>T 突变位点



A: 患儿存在 c.537G>A 同义突变,导致氨基酸改变 p.T179T; B: 患儿父亲存在 c.537G>A 同义突变; C: 患儿母亲无突变; 红色箭头所指为基因突变所在碱基位置。

图2 IL-10RA 基因测序图 c.537G>A 突变位点

行病学及多中心大样本研究。国内已报道10例IL-10R基因突变导致新生儿VEO-IBD,所有IL-10R基因突变均为IL-10RA基因突变,其中杂合突变9例,纯合突变1例,其中c.301C>T位点突变7例,c.537G>A位点突变6例^[8]。本文中报道的1例新生儿IBD的基因检测结果IL-10RA基因突变位点为c.301C>T、c.537G>A,与既往中国地区新生儿IBD的基因检测结果相符合。因此推测IL-10RA基因第3外显子c.301C>T、第4外显子c.537G>A是中国患儿最常见的突变位点,为诊断新生儿IBD的基因测序提供了线索。

Glocker等^[9]首次证实VEO-IBD可能继发于VEO-IBD患者单基因变异。该研究在VEO-IBD患儿中发现IL-10RA/B功能缺失表现为重症小肠结肠炎和肛周疾病。国内许永彬等^[10]2012年首次报道了2例IL-10RA基因突变的新生儿IBD同胞兄弟,采用反转录PCR扩增进行基因测序,Western印迹验证IL-10RA功能,证实了IL-10RA对体内炎症的负反馈调节。IL-10是由多种细胞分泌的抗炎细胞因子,其中包括树突状细胞、自然杀伤细胞、嗜酸性粒细胞、肥大细胞、巨噬细胞、B细胞、CD4⁺T细胞等。IL-10通过限制TNF- α 、IL- β 等炎症因子的释放^[11],抑制过度的促炎反应而维持稳态,其通过与IL-10受体IL-10R的结合发挥作用。IL-10R是四聚体复合物。由IL-10RA编码的2个 α 亚单位(IL-10R1)和IL-10RB编码的2个 β 亚单位(IL-10R2)组成。IL-10R主要在造血组织中表达,在单核巨噬细胞表达最多。IL-10与IL-10R结合后可激活IL-10/JAK1/STAT3级联反应。STAT3激活效应基因,随后抑制促炎基因,限制炎症因子转录、翻译、分泌^[12]。

VEO-IBD患儿通常表现为不同的表型,消化道症状表现为反复迁延不愈腹泻、黏液血便、口腔溃疡、肛周脓肿、肛瘘等,全身症状则包括持续间断发热、贫血、明显的体重减轻、生长迟缓、皮肤湿疹等,且临床症状程度严重^[4]。统计国内IL-10R基因突变导致新生儿VEO-IBD病例,发现所有患儿均以腹泻、发热起病,伴有体重不增,其中70%有口腔溃疡,抗感染治疗效果欠佳。本文报道的1例给予强效抗感染后,仍有反复发热、腹泻。VEO-IBD的传统治疗包括硫唑嘌呤、甲氨蝶呤、皮质类固醇、氨基水杨酸类药物以及英夫利昔单抗等生物制剂。但IL-10R基因突变导致的VEO-IBD对各种免疫抑制疗法也有耐药性。少数患者由于肠道炎症症状重,且对传统治疗效果差,而不得不接受肠切除、回肠

造口术或结肠造口术。VEO-IBD患儿病程中慢性炎症活动引起的腹泻、便血可导致严重的营养不良,因此营养支持治疗与治疗慢性炎症同样重要。上述治疗通常可短期轻微改善临床表现,但无法长期控制慢性活动。鉴于IL-10主要作用于造血和免疫细胞,异基因造血干细胞移植已被尝试作为治疗IL-10或IL-10R突变导致VEO-IBD患者的一种治疗方法。目前国内外报道的接受HSCT治疗的患儿共有17例,均取得临床缓解^[13]。本文总结分析了国内10例IL-10R突变导致新生儿IBD患者的治疗方案,发现其中9例予传统激素、免疫制剂及手术治疗后无法使患儿长期临床缓解,1例接受异基因造血干细胞移植治疗后检测IL-10RA基因突变的被修复,移植后11个月,临床持续缓解,无相关移植并发症发生^[14]。初步结果支持HSCT可治愈VEO-IBD患者IL-10或IL-10R突变,是一种很有前途的治疗VEO-IBD患者IL-10或IL-10R突变的方法。然而,目前移植例数少,经验有限,且随访期较短,仍需不断积累经验与总结,进一步研究来解决其在有IL-10或IL-10R突变的VEO-IBD患者中的长期安全性和有效性。

VEO-IBD是一种罕见疾病,特别是新生儿期IBD,具有很高的基因突变概率,最常见的突变为IL-10或IL-10R基因突变。早期识别新生儿IL-10基因或IL-10R基因突变的VEO-IBD表型,及时进行基因检测,可帮助这些患者早期诊断和治疗。对于IL-10基因或IL-10R基因突变的VEO-IBD患者,在临床试验中,异基因HSCT可能是一种有效的治疗方法。

[参考文献]

- [1] Benchimol EI, Mack DR, Nguyen GC, et al. Incidence, outcomes, and health services burden of very early onset inflammatory bowel disease[J]. *Gastroenterology*, 2014, 147(4):803-813
- [2] Kelsen JR, Dawany N, Conrad M, et al. Commentary on mutations in interleukin-10 receptor and clinical phenotypes in patients with very early-onset inflammatory bowel disease: A Chinese VEO-IBD Collaboration Group Survey[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2017, 23(4):591-592
- [3] Nemati S, Teimourian S, Tabrizi M, et al. Very early onset inflammatory bowel disease: Investigation of the IL-10 signaling pathway in Iranian children[J]. *Eur J Med Genet*, 2017, 60(12):643-649
- [4] Fang YH, Luo YY, Yu JD, et al. Phenotypic and genotypic characterization of inflammatory bowel disease in children under six years of age in China[J]. *World J Gastro-*

enterol, 2018, 24(9): 1035-1045

[5] Moran CJ. Very early onset inflammatory bowel disease [J]. *Semin Pediatr Surg*, 2017, 26(6): 356-359

[6] 赵小静, 马晶晶, 朱云娟, 等. 克罗恩病患者外周血 Th17/Treg 细胞比例、血清炎症活动指标改变及其临床意义 [J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2017, 37(8): 1000-1004

[7] Shah N, Kammermeier J, Elawad M, et al. Interleukin-10 and interleukin-10-receptor defects in inflammatory bowel disease [J]. *Curr Allergy Asthma Rep*, 2012, 12(5): 373-379

[8] 姜毅, 陈东晖, 刘黎黎, 等. 白细胞介素 10 受体 A 基因缺陷致新生儿极早发炎症性肠病五例分析 [J]. *中华新生儿科杂志(中英文)*, 2017, 32(2): 105-109

[9] Glocker EO, Kotlarz D, Boztug K, et al. Inflammatory bowel disease and mutations affecting the interleukin-10 receptor [J]. *N Engl J Med*, 2009, 361(21): 2033-2045

[10] 许永彬, 陈玉冰, 曾萍, 等. 白细胞介素 10 受体突变引起新生儿期炎症性肠病的发病机制及基因诊断 [J]. *中华儿科杂志*, 2015, 53(5): 348-354

[11] 施颖琦, 于成功. 姜黄素对 TNF- α 诱导的 HUVEC 表达 ICAM-1 的调节作用 [J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2014, 34(11): 1476-1480

[12] Hutchins AP, Diez D, Miranda-Saavedra D. The IL-10/STAT3-mediated anti-inflammatory response: recent developments and future challenges [J]. *Brief Funct Genomics*, 2013, 12(6): 489-498

[13] Kotlarz D, Beier R, Murugan D, et al. Loss of interleukin-10 signaling and infantile inflammatory bowel disease: implications for diagnosis and therapy [J]. *Gastroenterology*, 2012, 143(2): 347-355

[14] 彭凯玥, 钱晓文, 吴冰冰, 等. 脐血干细胞移植治疗白介素 10 受体 A 基因突变导致的极早发型炎症性肠病 1 例病例报告并文献复习 [J]. *中国循证儿科杂志*, 2016, 11(3): 171-176

[收稿日期] 2018-04-30

(上接第 1765 页)
的缺乏尚不能明确。

SBH 的预后多与患者基础疾病相关, 一般预后良好, 少数病情严重患者多死于肝硬化、肝衰竭、肺部病变等。原发性 SBH 目前无特殊治疗方法, 继发性 SBH 则应积极治疗原发病。同时, 无论是原发性还是继发性, 都需根据病情予对症治疗, 如有脾大、脾功能亢进的患者可行脾切除术提升血细胞水平降低出血风险。此外, 骨髓移植、干细胞移植等对同为脂质代谢异常性疾病的尼曼匹克病有一定疗效^[11-12], SBH 的治疗是否可借鉴上述方法还有待进一步研究。

[参考文献]

[1] Sawitsky A, Hyman GA, Hyman JB. An unidentified reticuloendothelial cell in bone marrow and spleen; report of two cases with histochemical studies [J]. *Blood*, 1954, 9: 977-985

[2] Silverstein MN, Ellefson RD, Ahern EJ. The syndrome of the sea-blue histiocyte [J]. *N Engl J Med* 1970; 282(1): 1-4

[3] Bermejo N, Prieto J, Arcos MJ. Sea-blue histiocytosis in bone marrow of a patient with chronic thrombocytopenia [J]. *Acta Haematol.*, 2015, 133(3): 277-278

[4] Saad Eldeen Bakheet O, Yusof N, Raja Zahratul A, et al. Secondary sea-blue histiocytosis in a patient with transfu-

sion dependent HbE-beta thalassaemia and osteosarcoma [J]. *Indian J Hematol Blood Transfus*, 2016, 32 (Suppl 1): 262-266

[5] Wu TF, Hoff DS. Fish oil lipid emulsion-associated sea-blue histiocyte syndrome in a pediatric patient [J]. *J Pediatr Pharmacol Ther*, 2015, 20(3): 217-221

[6] 李惠珍, 白莹, 杨生义, 等. 乙型肝炎肝硬化合并海蓝组织细胞增生症 1 例报告 [J]. *实用肝脏病杂志*, 2013, 16(6): 565-566

[7] 张楠, 颜学兵, 郝俊贵, 等. 不明原因肝脾肿大及肝损多年的海蓝细胞增多症 1 例 [J]. *中华肝脏病杂志*, 2014, 22(11): 877-878

[8] 刘素英, 季慧范, 金晶兰, 等. 以门静脉高压为特点的海蓝组织细胞增多症 1 例 [J]. *中华消化杂志*, 2014, 34(6): 419-420

[9] 文川, 党西强, 万伍卿. 同胞姐弟同患海蓝组织细胞综合征 2 例报告并文献复习 [J]. *中国误诊学杂志*, 2006, 6(14): 2670-2672

[10] Breen C, Wynn RF, O'Meara A, et al. Developmental outcome post allogenic bone marrow transplant for Niemann Pick Type C2 [J]. *Mol Genet Metab*, 2013, 108(1): 82-84

[11] Quarello P, Spada M, Porta F, et al. Hematopoietic stem cell transplantation in Niemann-Pick disease type B monitored by chitotriosidase activity [J]. *Pediatr Blood Cancer.*, 2018, 65(2): 1-4

[收稿日期] 2018-07-17